

研究者：松村 幸恵（所属：日本大学歯学部 小児歯科学講座）

研究題目：下行性疼痛抑制経路の可塑的变化に及ぼす小児期の恐怖ストレスの影響

目的：

小児期の強制的な治療などの苦痛体験は、歯科恐怖症の既往歴で多くみられる。しかし、歯科恐怖を大幅に軽減できる意識下の治療法は未だ確立されていない。そこで、情動の中枢とされる前頭皮質、扁桃体等から入力を受け、疼痛抑制の他に不安・恐怖行動にも関与している中脳水道灰白質（PAG）に着目し、心理的ストレスが局所神経回路メカニズムにどのように影響するか明らかにすることを目的に実験を行う。

対象および方法：

腹外側中脳水道灰白質（PAG）は、情動の中枢とされる前頭皮質、扁桃体等から入力を受け、疼痛抑制の他に不安・恐怖行動にも関与している。近年、ストレス負荷時の動物モデルにおいて異常疼痛が生じたとする報告がある。幼少時の苦痛体験によって、疼痛制御に関与する中枢神経回路に変調が生じると、疼痛が増悪する可能性が示唆される。本研究ではストレスによるPAGにおける興奮性シナプス後電位の変化を検討する。

まず、PAGにおけるコリナージックニューロンの形態や細胞学的特徴を把握するために免疫組織学的解析を行う。手順としては、ホールセル記録の際に使用する電極内液にバイオサイチンを添加して細胞をラベルする。続いて、ABC法やDABの発色を用いてバイオサイチンで標識した細胞を可視化する。次に、ストレス負荷時にPAGに投射ニューロンを送っている脳領域について検討するために、ラットのPAGに逆行性トレーサーを注入し、脳領域を同定し、光活性化イオンチャネルを発現させたウイルスベクターを注入する。続いてスライス標本作製し、光刺激による興奮性シナプス後電位の応答を解析する。

結果および考察：

コリン作動性ニューロンが赤色に光るChAT-tdTomatoラットにおける島皮質でのコリン作動性ニューロンの形態学的特徴は以下の図1のようなダブルブーケ細胞の形態を示した。

また、PAGにおけるコリナージックニューロンの形態や細胞学的特徴を把握するために免疫組織学的解析を行ったところ、図2のような結果を得られ、島皮質とPAGでニューロンの形態が異なっていることがわかったが、今後も確認が必要である。

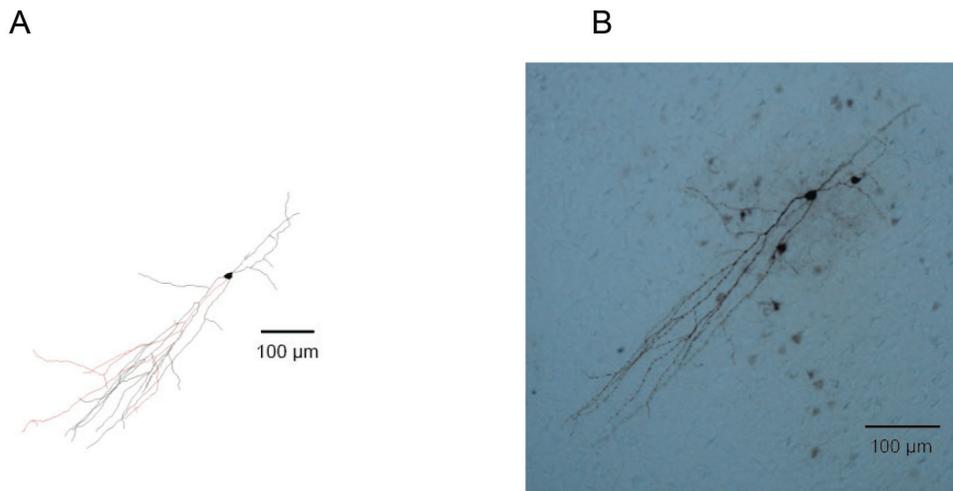


図1 ChAT-tdTomato ラット島皮質の細胞の形態学的特徴

A：ニューロロジーによる再構築像。ChAT-tdTomato 陽性細胞のトレーシング。

樹状細胞は黒、軸索を赤で示す。

B：バイオサイチン染色像。

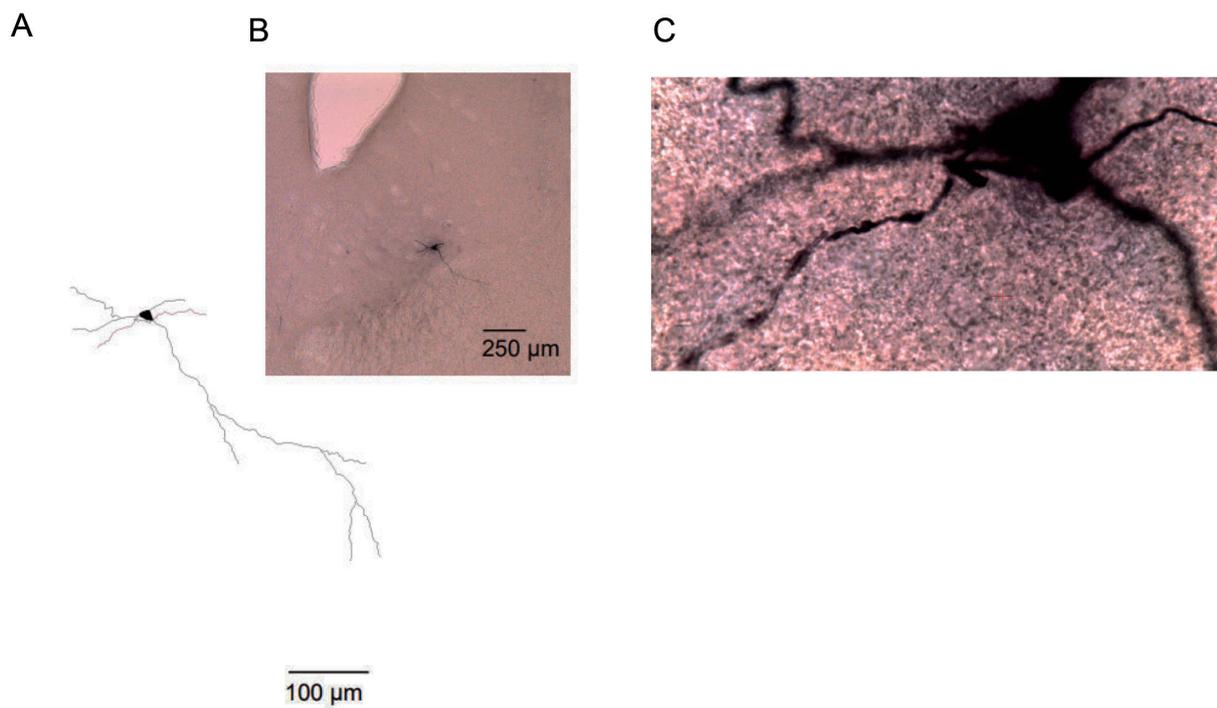


図2 ChAT-tdTomato ラットPAGの細胞の形態学的特徴

A：ニューロロジーによる再構築像。ChAT-tdTomato 陽性細胞のトレーシング。

樹状細胞は黒、軸索を赤で示す。

B：バイオサイチン染色像（×4）。

C：軸索の bouton が×100のレンズで明瞭に観察できる。

成果発表：（予定を含めて口頭発表、学術雑誌など）

今後、上記内容を含めて、学会発表ならびに雑誌投稿予定である。